UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1952-1953. — N° 297

CONSIDÉRATIONS SUR L'ÉVOLUTION DE LA THÉRAPEUTIQUE ET DE LA PROPHYLAXIE DE MALADIES INFECTIEUSES PAR LES SÉRUMS IMMUNS OU LEURS FRACTIONS PURIFIÉES

Travail du Centre régional de Transfusion sanguine de Bordeaux
et du Laboratoire régional de Bactériologie.
Service des Contagieux de la IV[e] région militaire.

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le lundi 21 décembre 1953

PAR

Raymond-Henri-Gérard-Samuel WILLIAUME

Élève de l'École du Service de Santé Militaire.

Né à SAINT-CYR-EN-TALMONDAIS (Vendée), le 24 juillet 1928.

Examinateurs de la Thèse

MM. MASSÉ, professeur ..... *Président*
FONTAN, professeur .....
VERGER, agrégé ..... *Juges.*
MOUSTARDIER, maître de conf., agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly, 6

1953

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1952-1953. — N° 297

CONSIDÉRATIONS SUR L'ÉVOLUTION DE LA THÉRAPEUTIQUE ET DE LA PROPHYLAXIE DE MALADIES INFECTIEUSES PAR LES SÉRUMS IMMUNS OU LEURS FRACTIONS PURIFIÉES

Travail du Centre régional de Transfusion sanguine de Bordeaux
et du Laboratoire régional de Bactériologie.
Service des Contagieux de la IV[e] région militaire.

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le lundi 21 décembre 1953

PAR

Raymond-Henri-Gérard-Samuel WILLIAUME

Élève de l'École du Service de Santé Militaire.

Né à SAINT-CYR-EN-TALMONDAIS (Vendée), le 24 juillet 1928.

Examinateurs de la Thèse

MM. MASSÉ, professeur ..... *Président*
FONTAN, professeur .....
VERGER, agrégé ..... *Juges.*
MOUSTARDIER, maître de conf., agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly, 6

1953

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.

DOYEN : M. PORTMANN.

ASSESSEUR : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PERY, LABAT, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	CREYX.	Pathologie générale et expérim...	SARIC.
id.	BROUSTET.	Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurg. inf. et orthop.	POUYANNE.
Clinique chirurgicale	MASSÉ.	Clin. des maladies infectieuses	AUBERTIN.
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.	Chimie biologique et médicale	TAYEAU.
Clinique gynécologique	MAGENDIE.	Physique méd. et pharmaceutique.	PIFFAULT.
Anatomie pathol. et microsc. clin.	DE GRAILLY.	Méd. col. et clin. mal. exotiques.	BONNIN.
Anatomie	DUFOUR.	Clin. malad. cutanées et syphilit.	JOULIA.
Anatomie générale et histologie.	MAYER.	Clin. des mal. des voies urinaires.	DARGET.
Hygiène et clin. de la tubercul.	PIÉCHAUD.	Clin. mal. nerveuses et mentales.	DELMAS-MARSALET.
Médecine légale et du Travail.	DERVILLÉE.	Clin. d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Electroradiol. et clin. d'él. médic.	REBOUL.	Toxicologie et hygiène appliquée.	CASTAGNOU.
Chimie	MESNARD.	Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.
Matière médicale	GOLSE.	Clin. méd. des mal. des enfants.	FONTAN.
Pharmacie	VITTE.	Botanique et cryptogamie	GIRARD.
Physiologie	FABRE.	Thérapeutique	N...
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.	Hydrologie thérapeut. et climat.	DUBARRY.

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

BLANQUET (Physique pharmaceutique).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.		MM.
Parasitologie	PAUTRIZEL.	Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE.
Physiologie	Mlle ROUGIER.	Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER. QUILICHINI.
Bactériologie	MOUSTARDIER.	Pharmacie (3e Section)	CAZAUX.
Anatomie pathologique	LEGER.	Biochimie médicale	NEUZIL.
Anatomie	RIGAUD.	Pathologie expérimentale	FAURE.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Médecine générale	N... F.-J. TRAISSAC. BERGOUIGNAN. LENG-LÉVY. LAVIGNOLLE. MORETTI.	Obstétrique	CHASTRUSSE. FAUGÈRE.
		Ophtalmologie	BESSIÈRE.
		Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
		Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT.
		Pédiatrie et Puériculture	VERGER.
		Méd. légale et méd. du Travail.	L'ÉPÉE.
Chirurgie générale	LAUMONIER. CHAVANNAZ. VILLAR. TINGAUD. DEPAULIS.	Electroradiologie	LACHAPÈLE.
		Odonto-stomatologie	BENOIT.
		Urologie	LANGE.

AGRÉGÉ LIBRE :

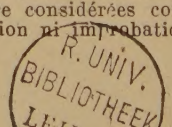
M. MAHON.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER.	Organographie et Physiol. végét.	TEMPERÉ.
Accouchements	CHASTRUSSE.	Chimie biologique-analytique	MARQUEVIELLE.
Puériculture	VERGER.	Chimie analytique	BABIN.
id.	PERY.	Pathologie chirurgicale	VILLAR. LAUMONIER.
Législation pharmaceutique	N..		
id.	COUSTOU.	Zoologie pharmaceutique	BAILENGER.
Anatomie	CABANIÉ.	Obstétricie sociale	MAHON.
Cryptogamie	LAUBIE.		
Médecine légale	L'EPEE.		

Le Secrétaire principal de la Faculté . ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.



A MA FEMME

Raison de mon travail.

A MES PARENTS

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance et de ma grande affection.

A Monsieur le Médecin Général Inspecteur DEBENEDETTI

Directeur du Service de Santé de la IVe Région militaire,

Médecin des Hôpitaux militaires,

Membre correspondant national de la Société médicale des Hôpitaux de Paris.

Membre de la Société française de Tuberculose,

En reconnaissance de sa constante bienveillance à notre égard et en témoignage de notre respectueux dévouement.

A Monsieur le Médecin Général CHAVIALLE

Directeur de l'Ecole du Service de Santé militaire

A Monsieur le Médecin Commandant GRENIER de CARDENAL

Médecin-Chef du Service des Contagieux et du Laboratoire de Bactériologie de la IV^e^ Région militaire.

Qui nous a guidé intellectuellement et humainement; en témoignage de notre haute estime.

A Monsieur le Médecin Commandant TASEI

Médecin-Chef du Service de Dermato-Vénérologie de la IV^e^ Région militaire.

En témoignage de notre grande sympathie.

A Monsieur Francis MESNIER

Chef de Laboratoire au Centre régional de transfusion sanguine.

Qui nous a guidé de la façon la plus sûre et la plus amicale.
Qu'il trouve ici l'expression de notre vive sympathie.

Au Docteur BENTEGEAT

Assistant de Biologie des Hôpitaux.

Qui nous a conseillé de façon précieuse dans notre travail.

A NOS JUGES

Monsieur Georges MOUSTARDIER

Maître de Conférences agrégé,
Médecin des Hôpitaux coloniaux,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Médaille de la Résistance française,
Officier d'Académie,
Médaille des Epidémies,
Médaille coloniale.

Monsieur VERGER

Agrégé,
Médecin des Hôpitaux,
Officier d'Académie,

Monsieur le Professeur FONTAN

Professeur de Clinique médicale des Maladies des enfants,
Médecin des Hôpitaux,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Officier de l'Instruction publique.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Lucien MASSÉ

Professeur de Clinique chirurgicale,
Chirurgien des Hôpitaux,
Directeur du Centre régional de Transfusion sanguine,
Associé national de l'Académie de Chirurgie,
Membre du Comité français de l'Association Internationale de Chirurgie,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Chevalier de l'Ordre de la Santé publique,
Officier de l'Instruction publique.

Qui a bien voulu nous faire l'honneur
de présider notre thèse.

CONSIDÉRATIONS SUR L'ÉVOLUTION DE LA THÉRAPEUTIQUE ET DE LA PROPHYLAXIE DE MALADIES INFECTIEUSES PAR LES SÉRUMS IMMUNS OU LEURS FRACTIONS PURIFIÉES

INTRODUCTION

Depuis très longtemps, les hommes ont pensé que les organes du corps étaient le support des qualités physiques, intellectuelles et morales. En effet, on voit les peuples primitifs dévorer l'organe qu'ils pensent être à la base de la qualité recherchée. Cette antique notion fut depuis tenue pour fausse. Mais comme cela a été constaté pour beaucoup d'idées, l'hypothèse primitive ou antique reparaît actuellement sous une forme différente. C'est le cas de la transmutation.

L'étude de l'immunité justifie cette façon de penser. Les progrès actuellement réalisés dans la séparation des composants du sang et leurs conséquences thérapeutiques rendent intéressante une mise au point des notions actuelles.

L'infection microbienne, virale ou mycosique modifie le plus souvent le terrain du porteur au cas où celui-ci ne meurt pas de cette affection : en effet, pour un certain nombre des maladies infectieuses, la première atteinte confère l'immunité. Cette propriété a été localisée le plus souvent au niveau

du sérum, et plus particulièrement de sa fraction protéinique. Les méthodes d'investigation physico-chimique modernes ont permis d'isoler les fractions porteuses de cette qualité.

Nous nous proposons, dans notre travail, d'étudier la méthode semblant la plus logique de traiter une maladie infectieuse déclarée : annihiler la toxine, la bactérie ou le virus par l'anticorps spécifique. Il a paru rationnel, entre autres méthodes, d'essayer de transmettre à un individu les propriétés de défense élaborées par un autre.

Nous nous limiterons donc à l'étude de la préparation et des indications des sérums de convalescents, d'anciens malades et à celles des acquisitions récentes dans ce domaine : emploi des sérums d'hyper-immunisés, d'immuns réactivés, nous cantonnant dans quelques résultats particuliers.

Enfin, nous envisagerons l'obtention des fractions d'activité plus spécifique : les globulines, et plus particulièrement les γ-globulines, dont l'intérêt sans cesse croissant doit nous inciter à augmenter la production et à généraliser l'emploi.

Nous aurons été amené, à ce sujet, à envisager quelques notions générales sur la séparation des protéines, qui nous permettront de rappeler les variations pathologiques survenant au niveau des protides sériques.

PREPARATION ET INDICATIONS DES IMMUNS-SERUMS

De nombreuses preuves ont été apportées de la localisation des anticorps parmi les gamma-globulines. Par exemple, on trouve dans le sérum des gamma-globulines correspondant à l'antigène en cause, après une immunisation active. En effet, la précipitation par l'antigène de la fraction anticorps homologue, élimine *in vitro* une partie des gamma-globulines de ce sérum. La vérification en est facile par l'électrophorèse et, *in vivo*, par la perte du pouvoir de protection. A l'inverse, l'injection élective de la fraction gamma-globulinique d'un immun-sérum, met en jeu des possibilités thérapeutiques ou prophylactiques.

L'attitude du médecin à l'égard des maladies infectieuses consistera donc à essayer d'accroître ce taux de gamma-globulines, soit préventivement, d'une manière durable ou provisoire (vaccination et prévention), soit curativement (sérothérapie, séro-atténuation).

Le principe de la vaccination est de faire apparaître dans un organisme les gamma-globulines anticorps par introduction d'un antigène dépourvu de toute propriété pathogène.

Les autres méthodes apportent, au contraire, ces gamma-globulines à l'organisme. Celles-ci, produites par un individu de même espèce, ou d'espèce différente, sont hétérogènes au receveur, et donc éliminées plus ou moins rapidement.

Si le donneur est un animal, il s'agit de la sérothérapie au sens large. Si c'est un homme, nous nous trouvons en pré-

sence de l'utilisation du sérum de convalescents, d'anciens malades, ou d'hyperimmunisé. Ce sérum peut être total ou fractionné et utilisé alors dans sa portion efficace, celle des gamma-globulines.

On peut donc avoir recours aux immuns-sérums humains dans toutes les maladies immunisantes. Pratiquement, il n'en est fait usage que lorsque l'on ne dispose pas de sérums animaux, ou si ceux-ci sont moins efficaces que les sérums humains. C'est principalement le cas des maladies à virus.

Cette méthode permet de limiter certaines épidémies dans des collectivités fragiles, de lutter contre les diffusions à distance, de protéger des sujets affaiblis, et de traiter des sujets faibles déjà atteints.

Les sérums sont obtenus : d'une part, de convalescents, d'anciens malades, de sujets ayant été au contact, et, d'autre part, d'immuns réactivés, et d'hyperimmunisés. Les doses varient suivant la qualité du donneur.

On doit obtenir des sérums stériles. Leur titrage est difficilement réalisable. Leur mélange permet d'obtenir une efficacité certaine.

Au Val-de-Grâce, des convalescents volontaires donnent 200 cm^3 de sang. Au bout de quelques heures, le caillot est décollé, et le tout porté à la glacière. Le sérum, prélevé avec une pipette à boule, est disposé dans des fioles. La culture en anaéro-aérobiose et les réactions sérologiques vérifient l'asepsie du produit. Les flacons sont conservés quinze jours au minimum pour éviter la transmission possible, chez le receveur, d'une infection alors latente chez le donneur. Ce délai passé, on répartit le sérum en ampoules. La technique américaine est en tous points comparable; elle utilise la centrifugation.

Le sang est prélevé à un moment où l'agent pathogène a disparu de l'organisme et où les anticorps ont atteint leur taux le plus élevé. Les conditions d'emploi visent à une prévention complète (séro-prévention) ou partielle (séro-atténuation), surtout si la maladie en cause est immunisante.

C'est ainsi que les indications majeures sont : la rougeole, la coqueluche (sérum hyperimmunisé), l'hépatite épidémique, la scarlatine, les oreillons, la rubéole, les épidémies de rhino-pharyngite, la poliomyélite, et aussi le choléra, la dysenterie bacillaire; les leptospiroses.

La posologie, variable, peut se fixer à 1 cm^3 par année d'âge, mais ne doit jamais être inférieure à moins de 3 cm^3 en vue de la prévention. Les injections se font par voie sous-cutanée ou intramusculaire pour la prévention, intramusculaire ou intraveineuse dans un but curatif. La dose est triple dans le cas de sérums d'anciens malades, et quadruple ou plus s'il s'agit d'individus exposés au contage. Avec un sujet réactivé, on se rapprochera des doses de sérum de convalescents. Des essais d'extraits placentaires de femmes guéries de la maladie en cause sont en cours.

En particulier, le sérum de convalescents trouve l'une de ses indications majeures dans la lutte contre la **rougeole**. Son efficacité, dans la prévention de cette maladie, est démontrée depuis Nicolle et Conseil. Le sérum d'anciens malades est aussi efficace, mais à des doses supérieures. La méthode est principalement indiquée au cours de la période d'incubation. Il faut agir en vue de la prémunition totale dans les cinq premiers jours qui suivent le contage. La prévention peut être alors complète, mais ne dure qu'une vingtaine de jours. L'immunité définitive ne se développe pas. Pour obtenir la séro-atténuation, on peut pratiquer l'injection pendant toute l'incubation; la rougeole se déclare, mais est atténuée, et ainsi l'immunité est acquise. On a recours à la séro-prévention dans les épidémies de salles d'hôpital, de crèches, et de toute autre collectivité de jeunes, et encore chez les enfants de moins de 2 ans, les débiles, les tuberculeux et les sujets atteints d'une autre maladie. Les femmes enceintes près du terme doivent aussi en bénéficier. Dans les autres cas, il vaut mieux rechercher la séro-atténuation. La posologie en est résumée dans le tableau suivant :

	Séro-prévention		Séro-atténuation	
	Sérum de convalescent	Sérum d'ancien malade	Sérum de convalescent	Sérum d'ancien malade
Jusqu'à 1 an	4 cm³	12 cm³	*Préférer la séro-prévention.*	
De 1 à 2 ans	6 cm³	15 cm³		
De 2 à 5 ans	6 à 8 cm³	20 cm³	4 cm³	12 cm³
De 5 à 10 ans	10 cm³	25 cm³	5 cm³	15 cm³
De 10 à 15 ans	10 à 15 cm³	30 à 40 cm³	5 à 10 cm³	10 à 25 cm³
A partir de 15 ans	15 à 20 cm³	40 à 50 cm³	10 cm³	25 cm³
			Ceci avant le 6e jour. Du 6e au 9e jour, on utilise les doses de séro-prévention.	

L''efficacité de ces sérums s'atténue lentement et progressivement pendant leur conservation. Il faut alors augmenter les doses jusqu'à les doubler pour des sérums de plus de trois mois (1).

L'injection ne risque de donner lieu qu'à quelques incidents anaphylactiques bénins. Dans le cas d'emploi de sang total, il faut utiliser une dose double, et vérifier le groupage sanguin, notamment le facteur Rh si le bénéficiaire en est une fillette.

S'il est possible d'utiliser le sang entier, à défaut de sérum, il est, au contraire, plus satisfaisant d'employer la fraction active : les **gamma-globulines du sérum.**

Aux Etats-Unis, les premiers travaux remontent à 1936. Les résultats obtenus montrèrent le développement de 90 rougeoles, mais très nettement atténuées après injection de 2 à 4 cm³ à 102 sujets âgés de 1 an 1/2 à 10 ans. Il n'y a pas de réaction aux injections. Les succès les plus satisfaisants sont obtenus chez des enfants par injection de 4 cm³ jusqu'au cinquième jour après la contagion.

Par contre, le sérum de convalescents pur appliqué à 502 sujets âgés de 6 mois à 15 ans a donné : 50 % de protection complète; 27 % de modifications marquées favorables;

(1) Au Centre régional de Transfusion sanguine de Bordeaux, les sérums sont lyophilisés et congelés. Leur conservation est quasi illimitée.

18 %, des rougeoles étaient modifiées modérément; 4 % légèrement; 1 % n'avait pas réagi. De son côté, l'extrait de placenta humain a donné, par injection intramusculaire de 5 cm³ à 90 enfants : 38,9 % de protection complète; 37,7 % de rougeoles modifiées, et laissait se développer 23,3 % de rougeoles sévères [1].

L'utilisation du fractionnement des protéines plasmatiques permet de concentrer 10 fois le taux d'anticorps du plasma originel. Dans le cas de la rougeole, on peut ainsi concentrer un sérum d'ancien malade jusqu'à obtenir l'efficacité du sérum de convalescent. La gamma-globuline préparée actuellement est 20 fois plus concentrée que dans le plasma d'origine et permet d'obtenir, par exemple : 94,6 % de prévention complète; 5 % de rougeoles modérées; 0,4 % de rougeoles ne sont pas influencées. La dose utilisée est de 0,075 à 0,1 cm³ par livre de poids.

Les résultats comparatifs s'établissent ainsi :

	Succès	Insuccès
Sérum normal d'adulte	80 %	20 %
Sérum de convalescent	92 %	8 %
Extrait placentaire	95 %	5 %
Globulines	97 %	3 %

La durée de l'immunité dépend de la dose de gamma-globulines utilisée; par exemple, 0,1 cm³ par livre de poids protège trois semaines; 5 cm³ chez un adolescent ne protègent plus après six à huit semaines (2). Les réactions sont négligeables.

L'avantage des gamma-globulines est d'associer à la facilité d'emploi leur grande activité.

Il en serait de même pour la plupart des maladies de l'enfance. Cependant, dans certains autres cas particuliers chez les adultes, par exemple celui de la **fièvre récurrente mon-**

(2) Dans l'hépatite épidémique, Stokes obtient une immunité de cinq à neuf mois. Nous verrons plus loin comment on peut expliquer ce résultat.

diale, des succès spectaculaires ont pu être enregistrés. Une épidémie éclate en Tunisie en 1943 et s'aggrave en 1944. Au début, les médecins militaires traitent les sujets atteints par les arsenicaux trivalents et les sels de bismuth. Mais cette chimiothérapie n'est pas sans danger en raison des signes plus ou moins accusés d'altérations hépato-rénales fréquemment rencontrés. Ils essaient alors le sérum de convalescents. C'étaient les premiers cas de cette affection ainsi traités [2].

L'action du sérum a d'abord été étudiée *in vitro* et montre, après mélange des sérums de malades et de convalescents, une lyse des spirochètes au bout d'une heure à 37°. Le malade reçoit alors 20 cm³ de sérum par voie intraveineuse. Au bout d'une heure, une réaction assez pénible se manifeste (frissons, céphalée, sueurs et délire, température passant de 39°5 à 40°5), dûe à un choc après lysé des spirochètes. On ne retrouve plus alors ceux-ci dans le sang. Vers la sixième heure, le malade ressent une impression de détente, dort, et le lendemain sa température est tombée à 36°8. Le taux d'urée sanguine tend vers la normale à la quarante-huitième heure.

Ce tableau a lieu quel que soit le stade de la maladie. Si l'on institue ce traitement entre les accès, il n'y a pas de choc et pas d'onde fébrile nouvelle.

Le sérum utilisé pour les traitements est prélevé du quinzième au vingtième jour après le dernier accès fébrile. Il est formolé à 1 p. 2.000, chauffé 2 fois à 56° et réparti en flacons (Stora et Mamou).

A côté de ces cas de récurrente mondiale, mention doit être faite de l'**encéphalite post-vaccinale.** L'injection de sérum de sujet récemment vacciné peut provoquer parfois une véritable résurrection du malade. (Grenier de Cardenal et Fargeot [3].

La **poliomyélite** a pu faire croire à l'inefficacité du sérum de convalescents à son égard. Les données actuelles permettent, dans une certaine mesure, une prophylaxie efficiente de cette affection [4]. Les tentatives ont porté sur un nombre

considérable de cas, comparés à des lots témoins; les sujets inoculés et les témoins doivent être dans les mêmes conditions de vie, de contagiosité, de surveillance médicale. Les inoculations se font au cours du développement de l'épidémie.

Des essais ont été réalisés dans l'Utah, le Texas et l'Iowa-Nebraska, en vue de conférer l'immunité passive à environ 28.000 enfants sur un total de 55.000. Ces enfants reçoivent 0,28 cm^3 de gamma-globulines par kilogramme. Les autres reçoivent une injection de solution de gélatine.

Dans les treize semaines qui suivent, on a constaté 73 cas de poliomyélite chez les témoins, et 31 chez les préservés. L'apparition de la maladie s'établit ainsi :

	Inoculés.	Témoins.
1re semaine	12	16
Dans les 4 semaines suivantes	7	39
6e, 7e et 8e semaines	7	13
9e à 13e semaine	5	5

L'immunité passive paraît donc se développer à la fin de la première semaine. Ce retard, peut-être apparent, à la prévention, pourrait s'expliquer par le caractère latent, mais inévitable de l'infection à ce moment (à comparer avec une rougeole peu de temps avant son éclosion) (3). La protection est maxima de la deuxième à la cinquième semaine, décroît à partir de la cinquième et disparaît à partir de la septième. Il faut faire une nouvelle injection vers la cinquième semaine pour obtenir une immunité de dix à treize semaines. Cette méthode est réservée à toute épidémie sévère et reste la seule dont l'efficacité soit démontrée en attendant l'application de la vaccination. Elle a contre elle son prix de revient élevé et la courte durée de son effet.

D'ailleurs, pour pallier ces inconvénients, des essais tentés en vue de conférer une immunité active sont poursuivis paral-

(3) Certains échecs du sérum de convalescents à la phase pré-paralytique sont à rapprocher de ces résultats statistiques.

lèlement. Aussi est-il de nos jours possible de préparer deux vaccins : l'un en solution aqueuse, destiné à la voie intradermique; l'autre sous forme d'une émulsion huileuse injectée par voie intramusculaire.

Dans la plupart des affections que nous venons d'étudier, chaque variété d'immun sérum peut être utilisée. La coqueluche réagit surtout au **sérum d'hyperimmunisé** (4).

Pour obtenir la meilleure concentration en anticorps, il faut utiliser le vaccin le plus actif, injecté par la voie la plus efficace. Au Centre de Transfusion sanguine de Bordeaux, 9 donneurs ont été testés (Bentégeat). Un vaccin simple, à 30 milliards de germes en suspension au centimètre cube, a donné par la voie intradermique, avec des doses très inférieures à celles utilisées pour les injections sous-cutanées habituelles :

1 agglutination à 1/2.560;
1 agglutination à 1/1.280;
3 agglutinations à 1/640;
3 agglutinations à 1/320;
1 agglutination à 1/80,

après une série de 8 injections. Deux donneurs avaient été éliminés.

Ce taux paraissant faible, un vaccin adsorbé sur hydrate d'alumine (Perthydral), utilisé aussitôt, a donné par voie sous-cutanée :

5 agglutinations à 1/2.560;
4 agglutinations à 1/320,

après un nombre d'injections variant de 2 à 10, sans qu'il y ait relation entre le nombre des injections et le taux des agglutinations dans les cas extrêmes.

Le sérum ainsi obtenu doit être conservé lyophilisé ou congelé. En effet, des sérums conservés en ampoules et aggluti-

---

(4) Celui-ci est, d'autre part, le seul qu'on puisse se procurer en quantité appréciable.

nant au départ à 1/2.560, descendent rapidement à un taux de 1/640 ou même 1/320 (5).

Les donneurs sont entretenus par une injection mensuelle. On utilise le sérum à titre préventif sous forme de deux doses de 20 cm^3, à quarante-huit heures d'intervalle, immédiatement après le contage. A titre curatif, on pratique 3 injections. Les doses sont fractionnées en cas de réactions trop fortes, ou s il s'agit de nourrissons (accidents encéphalitiques).

Les titrages montrent un taux d'anticorps rapidement ascendant chez les enfants prémunis par un vaccin adsorbé. Le taux se révèle insuffisant avec un vaccin simple sous-cutané (1 cm^3), ou même intradermique (2 à 3/10 de cm^3).

C'est donc la qualité de l'antigène, adsorbé, qui paraît garantir le taux des anticorps. Il y a intérêt à généraliser son usage, en particulier chez les enfants, les nourrissons et les donneurs à hyperimmuniser.

Au terme de cette revue de la préparation et des indications d'immuns-sérums, nous voyons bien l'évolution qui s'est faite dans leur emploi. Le sang total, le sérum, puis les gamma-globulines ont été utilisés. Des immunisations ont été provoquées et accrues pour utiliser le sérum du sujet.

Il a été constaté que des sujets soumis à la séro-prévention n'étaient plus atteints par la maladie, même en cours d'épidémie. A son déclin, la séro-prévention permettrait-elle à une infection inapparente de se développer, en laissant l'immunité ?

---

(5) Cette notion diminue la confiance qu'on pouvait mettre dans les sérums du commerce.

LES RESULTATS

Pour avoir une idée des résultats que l'on peut attendre de cette méthode, nous pouvons faire état des réalisations du Centre régional de Transfusion sanguine de Bordeaux (Hôpital Saint-André), en liaison avec l'Hôpital militaire Robert-Picqué, dont le Service des contagieux fournit les donneurs, tous volontaires.

Maladies	Nombre de prélèvements	Nombre d'ampoules de 5 cm³
1951. Rougeole	38	625
1952.	84	155
1951. Oreillons	18	369
1952.	6	88
1951. Scarlatine	6	75
1952.	5	77
1951. Rubéole	0	0
1952.	5	102
1951. Poliomyélite ...	1	10 amp. de 20 cm³
1952.	0	0
1951. Varicelle	1	40
1952.	0	0
1951. Vaccine	1	20
1952.	0	0

Il est, par contre, impossible de fournir un compte rendu précis des inoculations de sérum de convalescents. Les protocoles ne sont guère établis par les thérapeutes. Il se dégage des réponses parvenues et du nombre de recours à la médication une notion d'efficacité certaine. En 1952, une épidémie de rougeole sévit parmi les troupes comme dans la population civile. Les enfants soumis à l'immunothérapie grâce au sérum prélevé sur des adultes, principalement de jeunes soldats, n'eurent pas à souffrir de l'atteinte épidémique.

Grâce à la diligence du Professeur Massé, du Docteur Bentégeat et de leurs services, le sérum distribué aux crèches et aux collectivités d'enfants eut une action des plus bénéfiques. Il n'a pas été constaté de complications secondaires

à la rougeole (séro-atténuation), ni à l'injection de sérum. L'épidémie a rétrocédé dans les collectivités (séro-prévention).

Toutes les femmes enceintes atteintes de rubéole au cours de leur grossesse ou soumises à la contagion, et ainsi traitées, ont accouché d'enfants normaux.

La thérapeutique par les immuns-sérums doit s'associer à la mycothérapie dans les cas graves (fièvre récurrente en particulier). Et sans tenir compte des conceptions uniciste ou dualiste, tous les cas d'encéphalite vaccinale en sont justiciables (Grenier de Cardenal).

De plus, à la suite des observations de Bruton [5], on connaît les états de carence en gamma-globulines, de dépistage désormais facile et justiciables du traitement par les gamma-globulines. Ces sujets, au taux de gamma-globulines effondré, jusqu'alors proies d'infections récidivantes, ont été immédiatement améliorés (Bentégeat).

Ces quelques résultats montrent l'importance prise par le traitement par les immuns-sérums et l'extension que cette méthode est susceptible d'acquérir.

LE FRACTIONNEMENT DES PROTEINES SERIQUES OBTENTION DES GAMMA-GLOBULINES — CONSEQUENCES

Depuis l'usage en thérapeutique des immuns-sérums, la partie active a été localisée au niveau des protéines. Le fractionnement de ces protéines sériques a été très poussé; certaines fractions sont apparues plus actives que d'autres. Nous allons, en premier lieu, effectuer une revue rapide des différentes méthodes de séparation utilisées, pour examiner ensuite quelques-unes de leurs applications.

Dès le début des recherches, la question fut compliquée par la terminologie des différents auteurs : les modalités de chaque méthode d'isolement étaient différentes. Depuis Panum et Denis, chaque auteur tenait à « ses » fractions, et les néologismes se multipliaient. Il est donc intéressant d'envisager les différents modes de préparation des fractions protéiques, et les produits ainsi fournis.

Les protéines jouent un rôle capital en tant que constituants biologiques. Elles sont très fragiles. La première étape de leur altération est la **dénaturation**, due à une rupture de certaines liaisons internes de leurs grosses molécules.

Elles sont constituées, en effet, d'acides aminés organisés en chaînes repliées. Ces chaînes sont hérissées des fonctions réactrices des acides; ce qui varie chez les protéines, c'est non seulement la qualité des acides aminés qui les composent, mais encore l'ordonnance de ces acides et la façon dont sont repliées les chaînes polypeptidiques qu'ils constituent.

A priori, on voit la difficulté que présentera l'analyse exacte d'un mélange de protéines. Des difficultés particulières surgissent, nées de l'énorme volume des molécules à trier. Deux molécules, identiques quant à leur composition globale, peuvent différer par un minime détail de structure interne. Ce détail peut être difficile à saisir par des méthodes analytiques, mais avoir son importance biologique ou immunologique.

Tout essai de séparation de protéines ne sera peut-être qu'une analyse imparfaite et artificielle (variété des principes des différentes techniques).

Il sera bon de travailler à basse température pour éviter la dénaturation des protéines et la prolifération bactérienne au sein du produit à analyser.

Les molécules protéiques sont maintenues en solution par leur charge ionique et les couches d'eau adsorbées à leur surface. Les méthodes de **précipitation fractionnée** s'adresseront à ces propriétés. Elles visent :

— à ôter aux molécules cette enveloppe d'eau;
— à leur ôter leur charge.

Les **sels neutres** ont été utilisés. Depuis Denis, on a ajouté différents sels à des taux variables pour obtenir une précipitation réversible des protéines en solution.

Le sulfate de magnésium (Denis [7]), le sulfate d'ammoniaque (Michailow [8], Kauder [9], Pohl [10], Hofmeister [11]), ont été employés. Par cette dernière méthode, la précipitation des globulines est obtenue à demi-saturation, tandis que les albumines restent en solution. Le sulfate de soude (Pinkus [12], Howe [13]) l'acétate de soude, le citrate de soude, les sulfites, phosphates et hyposulfites de soude, le sulfate de cuivre, le glycinate de zinc, ont aussi été utilisés.

Howe et Hofmeister ont étudié les courbes de relargage, c'est-à-dire de précipitation réversible des protéines. Elles possèdent un palier qui indique la possibilité de séparation.

Il a aussi été faite usage des **solvants organiques** pour la précipitation fractionnée. Piette et Vila ont montré la possibilité d'utiliser l'acétone. Certains se sont servis du méthanol (Pillemer et Hutchinson [14]), du mélange méthanol-méthylal (Delsal [15]).

L'**alcool éthylique** a été utilisé de façon fructueuse par Cohn et Edsall [16], et a permis une **production industrielle** des fractions plasmatiques pendant la dernière guerre. La méthode 6 de Cohn, à l'alcool, peut se résumer dans le tableau suivant :

PLASMA

↓

Ethanol	8 %	→ *Précipité.*	I
Concentration ionique	0,14		Fibrinogène
pH	7,2		Globuline antihémophilique
Température	— 3°		Cryoglobulines
Protéine	5,1 %		

↓

Liquide surnageant.

↓

Ethanol	25 %	→ *Précipité.*	II-III
C.I	0,09		Anticorps
pH	6,9		Isoagglutinine
Température	— 5°		Plasminogène
Protéine	3 %		Complément C1
			Prothrombine
			β1 lipoprotéine
			Cholestérol
			Caroténoïdes
			Vitamine A
			Estérogène

↓

Liquide surnageant.

↓

Ethanol	18 %	→ *Précipité.*	IV-1
C.I	0,09		Cholestérol
pH	5,4		Phosphatide
Température	— 5°		Phosphatase
Protéine	1,6 %		Polysaccharide
			Complément C2

↓

Liquide surnageant.

↓

Ethanol	40 %	→ *Précipité.*	IV-4
C.I	0,09		Hypertensinogène
pH	5,8		α glycoprotéine
Température	— 5°		β lipoprotéine
Protéine	1 %		Sérumestérase IV-6
			Métalloglobuline β1

↓

Liquide surnageant.

↓

Ethanol	40 %	→ *Précipité, repris par ...*	Ethanol 10 %
C.I	0,11		C.I. 0,01
pH	4,8		pH 4,5
Température	— 5°		Température.. — 3°
Protéine	0,08 %		Protéine 3 %

↙ ↘

Précipité V-1

Liquide surnageant.

↓

Ethanol 40 %
C.I. 0,01
pH 5,2
Température.. — 5°
Protéine 2,3 %

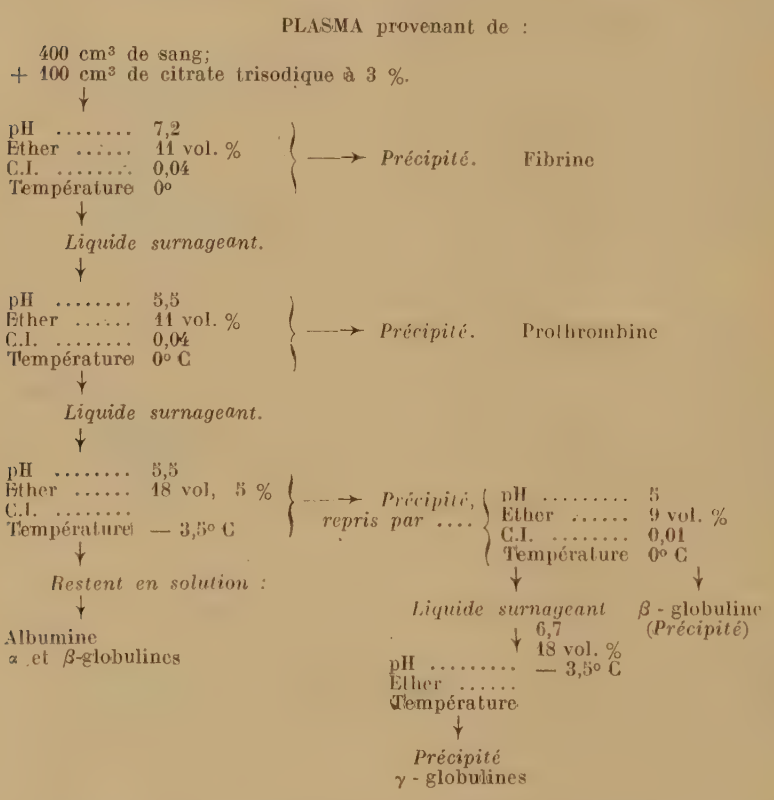
Précipité d'albumine

Restent en solution :

De petites molécules
Un peu d'albumine
α1 Glycoprotéine
α2 Glycoprotéine
β1 Glycoprotéine
Polysaccharide

(Méthode 6 de Cohn à l'alcool.)

Enfin, l'éther permet le fractionnement des protéines sériques. Il livre, entre autres constituants, les gamma-globulines. La méthode à l'éther peut ainsi se schématiser :



Cohn [17] a combiné les principes de ces méthodes en utilisant ensemble sels neutres et solvants organiques. Il emploie les réactifs suivants :

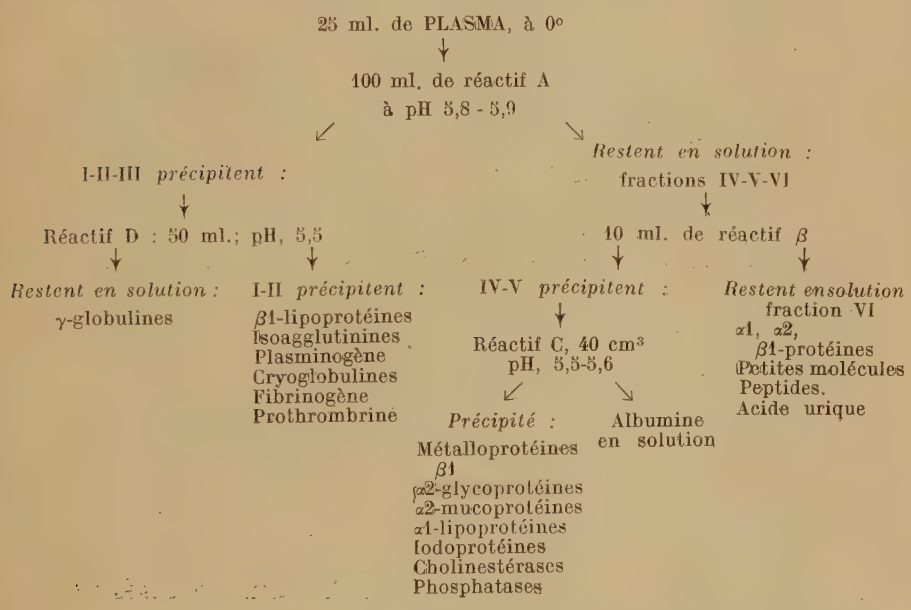
A. 250 ml. d'alcool à 95°;
25 ml. d'acétate de soude, tampon à pH4;
force ionique 0,8;
compléter à 1 litre avec de l'eau.

B. 200 ml. d'alcool à 95°;
54,8 g. d'acétate de zinc dihydraté;
compléter à 1 litre avec de l'eau.

C. 160 ml. d'alcool à 95°;
2,6 g. d'acétate de baryum;
20 ml. d'acétate de soude, solution M;
73 ml. d'acide acétique, solution M;
compléter à 1 litre avec de l'eau.

D. 150 ml. d'alcool à 95°;
2 ml. d'acétate de soude, solution M;
1,4 ml. d'acide acétique, solution M;
45 g. de glycocolle;
compléter à 1 litre avec de l'eau.

La méthode combinée de Cohn se présente ainsi :



Ce sont surtout ces méthodes qui permettent actuellement l'extraction des gamma-globulines. On a aussi fait usage des détergents dans le fractionnement des protéines (Putnam [18], Neuzil [19]; J. Polonovski [20]).

L'**électrophorèse** est basée sur la qualité que possèdent les molécules protéiques, de se comporter dans une certaine mesure comme des ions. En effet, si les groupements dissociables — COOH et — NH_2 servent à constituer la chaîne polypeptidique, la molécule protéique est hérissée des autres groupements fonctionnels libres des acides aminés périphériques. C'est de la résultante de leurs actions que naît la charge électrique de la molécule.

L'électrophorèse triera donc les molécules en fonction de la charge de celles-ci et de leur taille, qui fait qu'elles éprouvent plus ou moins de frottements propres à ralentir leur vitesse de migration.

L'électrophorèse permet le contrôle des méthodes de séparation industrielle, les diagnostics biologiques, la recherche.

Certains appareils isolent les acides aminés ou les oligopeptides. Ils sont cloisonnés. Ils sont basés, les uns (Cox, King, Berg [21], Theorell et Akesson [22], Williams et Watermann [23], Williams et Truesdail [24]), sur les différences du point isoélectrique des acides aminés; les autres (Theorell [25], Hahn et Tiselius [26], Taylor, Idles [27], Dahl [28], Verwey, Kruyt [29], Pauli [30], Gutfreund [31]), sur les différences dans la vitesse de translation. Par des artifices, on peut isoler les protéines. Dans cette catégorie se situent les appareils d'électro-décantation.

L'apparil de Tiselius [32] se compose principalement d'un tube en U. Il travaille à + 4°C, de façon à amener une meilleure vitesse de séparation et à éviter les courants de convection. Le tube à électrophorèse peut se fractionner en compartiments.

Les niveaux de séparation des protéines sont localisés par la « schlieren method ».

Une méthode d'utilisation clinique et de vérification industrielle est la **microélectrophorèse sur papier.** Le support des protéines est un papier filtre spécial imbibé d'une solution-tampon de véronal à pH 8,6. Le courant électrique est utilisé sous une forte tension. L'**électrophorèse** et la **chromatographie** sont ainsi combinées.

L'électrophorèse peut ainsi avoir lieu à plat, ou avec le papier incliné en V renversé. A la fin de l'opération, celui-ci est séché et révélé par un colorant des protéines (bleu de bromophénol, noir d'amidon). L'excès de colorant est lavé. Le dosage se fait après élution, par colorimétrie, ou par passage direct du papier révélé, au photomètre. Une courbe est obtenue, avec ses pics. Il est possible alors de calculer la surface propre aux différentes fractions protéiques, et de donner des résultats en pourcentage.

L'intérêt de cette méthode réside dans son prix de revient peu onéreux, tant du point de vue de l'appareillage que de celui des réactifs. Les examens qu'elle permet sont rapides et nombreux. De plus, elle ne nécessite qu'une faible quantité de sérum. Dans certains cas, elle permet d'obtenir une différenciation supérieure à celle fournie par l'électrophorèse classique (par exemple, la nature et l'altération des fractions albuminiques, Macheboeuf et Ribeyrotte). Elle est donc tout indiquée dans le **contrôle des préparations industrielles** des fractions protéiques, spécialement des gamma-globulines. Elle sera précieuse dans des **recherches variées** (sur les protéines, lipido-protéines et gluco-protéines). Le **diagnostic clinique** en tirera un grand avantage. Il a été possible, par la microélectrophorèse sur papier, d'établir le tableau suivant (transmis par M. F. Mesnier, Centre régional de Transfusion de Bordeaux) :

HYPOPROTEINEMIES

	Albumine	α1	α2	β1	β2	γ	
$\frac{A}{G} < N$	— — ⊢	=	+ +	= ou +	=	+ = —	Néphrose lipoïdique
	—	=	=	=	=	+	Néphrite aiguë
	—	=	=	+	+	—	Syndrome néphrotique
	— ou — —	=	=	+	+	+ +	Cirrhose hépatique
	—	+	+ +	=	=	=	Hépatite arsenicale
	— —	—	—	+ +	+ +	+	Hépatite chronique
	—	+ +	+ +	=	=	—	Dénutrition
	—	=	=	=	=	=	Malaria
	—	+	+ +	=	=	+ ou = ou —	Tuberculose chronique Hypoprotéinémie
	—	—	—	+	+	+	Cancer de l'estomac
	—	+	+	=	=	+ +	Lymphosarcome
	— —	=	=	=	=	+	Leucémie myéloïde
	— —	+	+	+	+	+	Leucémie lymphoïde
	—	+	+	=	=	+	Hémophilie.
	—	=	=	+	+	+ +	Anémie à cellules falciformes
	—	— ou =	— ou =	+	+	=	Ictère hémolytique
	— —	= ou +	= ou +	+	+	+ +	Fièvre typhoïde
$\frac{A}{G} = N$	— —	—	—	—	—	—	Insuffisance d'apport protéique Hémodilution Elimination trop importante des protéines.

PROTEINEMIES NORMALES

	Albumine	α1	α2	β1	β2	γ		
	—	+	=	+	+	+	Hépatites	
	—	=	=	+	+	+	Hepatitis epidemica	
	—	=	+	+ +	+ +	+	Ethylisme Insuffisance hépatique	
	= ou —	+	+ +	=	=	+	Méningite tuberculeuse	
	—	+	+	+	+	+ +	Fièvre typhoïde à forme encéphalique	
	—	+ (3e j.)	+ (3e j.)	+ (48e h.)	+ (48e h.)	=	Infarctus du myocarde	Immunisation Coqueluche
	—	=	+	=	=	+ +	Endocardite maligne à hémoculture négative	Périarthrite noueuse Lupus érythémateux
A/G < N	—	+	+ +	=	=	+	Maladies rhumastismales	Addison Leucémie aiguë
	—	+	+	=	=	=	Cardiopathie mitrale fébrile	Cancers viscéraux
	—	=	=	=	=	+	Maladies à réactions immunol.	Maladies parasitaires Syphilis
	—	—	+ +	+	+	+ + +	Lèpre	Pneumococcies
	—	=	=	=	=	+ +	Kala-azar	Paludisme
	—	=	=	+	+	+	Maladie de Nicolas-Favre	Colibacillose Endocardites
	—	+	+	=	=	+	Scarlatine	Variole Rougeole
	—	+	+	=	=	=	Diabète sucré	Poliomyélite
	—	+	+ +	+ +	+ +	+ +	Delirium tremens	Asthme
	—	+	+ +	=	=	+	Tuberculose	
A/G = N	=	=	=	=	=	=	*Normal*	
A/G > N	+	=	=	=	=	—	Malades hypo-immunisés Poliomyélite	

HYPERPROTEINEMIES

	Albumine	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\beta 1$	$\beta 2$	γ	
	— —	=	=	+	+	+ + +	Hépato-spléno-mégalies
$\frac{A}{G} < N$	— —	+ + +	+ + +	=	=	=	Myélome α
	— —	=	=	+ + +	+ + +	= ou —	Myélome β
	— —	=	=	=	=	+ + +	Myélome γ

LEGENDE

Taux augmenté : +
diminué : —
normal : =

Il est bien évident qu'on ne peut assurer un diagnostic au seul vu des résultats de l'électrophorèse. Ce tableau ne représente en effet qu'une schématisation des variations au niveau des protéines sériques. Il demande à être utilisé en fonction des données cliniques (par exemple, cas de l'interférence de deux maladies).

Nous venons d'étudier quelques méthodes de fractionnement des protéines. Certaines, utilisables industriellement, permettent l'obtention des gamma-globulines, compte tenu de certaines précautions indispensables (Julliard, Ardry *et al.*).

L'électrophorèse permet un contrôle de ces méthodes, donne un moyen d'étayer le diagnostic et permet des recherches.

CONCLUSIONS

La préparation et les indications des sérums de convalescents sont à l'heure actuelle bien codifiées. Pour certaines affections, il est indispensable d'avoir recours au sérum de sujets hyperimmunisés. Dans ce cas, le choix de l'antigène, le rythme de l'injection ainsi que le mode d'introduction du vaccin jouent un rôle important pour l'obtention d'un sérum actif. Seules la lyophilisation ou la congélation permettent la conservation d'un taux suffisant d'anticorps. Le titrage représente un contrôle indispensable.

A côté de cas bien particuliers (encéphalite vaccinale), le sérum de convalescents a été utilisé chez un certain nombre de sujets avec des résultats particulièrement intéressants grâce à la collaboration étroite du Centre de transfusion de Bordeaux et du Service des contagieux de la IV^e Région militaire.

Les progrès réalisés en immunochimie permettent à l'heure actuelle la séparation des différentes fractions protéiques du sérum, en particulier celle des γ-globulines. La production de celles-ci est désormais entrée dans une étape pratique.

Au Centre de transfusion à Bordeaux, la prophylaxie et la thérapeutique des maladies contagieuses ont subi, sous l'impulsion de M. le Professeur Massé, l'évolution normale suivante :

— préparation du sérum de convalescents;
— préparation de sérum d'hyperimmunisés;
— extraction des γ-globulines.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes, et, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu : Pour le Doyen :
L'Assesseur,
R. SIGALAS.

Vu, bon a imprimer :
Le Président,
L. MASSÉ.

Vu et permis d'imprimer .
Bordeaux, le 11 décembre 1953.
Le Recteur de l'Académie,
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1. Durieux. — *Revue du Corps de Santé militaire*, juill. 1945.
2. Stora et Mamou. — *Revue du Corps de Santé militaire*, n° 3, 1945.
3. Grenier de Cardenal et Fargeot. — *Journal de Médecine de Bordeaux*, mars 1952, n° 3.
4. Lhermitte (F.). — *Semaine des Hôpitaux de Paris*, XXIX[e] année, n[os] 50-51, 10-14 août 1953.
5. Royer (Jean). — *Presse médicale*, 10 juin 1953, n° 40.
6. Panum. — *Wirch. Arch.*, 1851, III, 251.
7. Denis. — *Nouvelles études cliniques*, Paris, 1856.
   — *Mémoire sur le sang*, Paris, 1859.
8. Michailow. — *Maly's Iahresb.*, 1884, XIV, 7.
9. Kauder. — *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1886, XX, 411.
10. Pohl. — *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1886, XX, 246.
11. Hofmeister. — *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1889, XXV, 1.
12. Pinkus. — *Journ. Physiol.*, 1901, XXVII, 57.
13. Howe. — *Journ. Biol. Chem.*, 1921, XLIV, 93.
14. Pillemer et Hutchinson. — *Journ. Biol. Chem.*, 1945, CLVIII, 299.
15. Delsal. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1947, XXIX, 690.
16. Cohn et Edsall. — *Proteins, Aminoacids*. Rheinhold, édit., New-York, 1943.
17. Cohn *et al.* — *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1950, 72-465.
18. Putnam. — *Advances in Protein Chemistry*, 1948, IV, p. 78.
19. Neuzil. — *II[e] Congrès International Biochim.*, Paris, 1952, p. 400.
20. Polonovski (J.). — Thèse Sc. Paris, 1950.
21. Cox, King et Berg. — *Journ. Biol. Chem.*, t. 81, 755, 1929.

22. Theorell et Akesson. — *Arkiv Kemi Mineral. Geol.*, 16 A, n° 8, 1943.
23. Williams et Waterman. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, t. 27, 56, 1929-1930.
24. Williams et Truesdail. — *Journ. Amer. Chem. Soc.*, t. 53, 4171, 1931.
25. Theorell. — *Biochem. Z.*, t. 278, 291, 1935.
26. Hahn et Tisélius. — *Biochem. Z.*, t. 314, 336, 1942.
27. Taylor et Idles. — *Ind. Eng. Chem.*, t. 18, 713, 1926.
28. Dahl. — *Kollvid. Z.*, t. 92, 70, 1940.
29. Verwey et Kruyt. — *Z. Physik. Chem.*, t. 167 A, 149, 1933.
30. Pauli. — *Helv. Chim. Acta*, t. 25, 137.
31. Gutfreund. — *Biochim. Journ.*, t. 37, 186, 1943.
32. Tisélius. — *Trans. Faraday Soc.*, t. 33, 524, 1937.
33. Puyfouilloux. — Thèse méd. Bordeaux, 1952-1953.

Dépôt légal effectué en 1953 (4e trimestre).

23730. — Imprimeries DELMAS, Bordeaux (31.0192). — 1953.